

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL, FRAKSI POLAR, SEMI  
POLAR, DAN NON POLAR HERBA KITOLOD (*Isotomalongiflora*(L) C. Presl.)  
TERHADAP SEL T47D**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I pada Fakultas Farmasi**

**Oleh:**

**SELVIANA**

**K100 130 199**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
2016**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL, FRAKSI POLAR,  
SEMI POLAR, DAN NON POLAR HERBA KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L)  
C. Presl.) TERHADAP SEL T47D**

**PUBLIKASI ILMIAH**

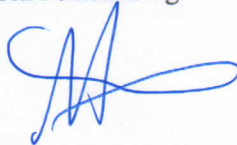
oleh:

**SELVIANA**

**K 100 130 199**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



**Maryati, Ph.D., Apt**

**NIK. 871**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL, FRAKSI POLAR,  
SEMI POLAR, DAN NON POLAR HERBA KITOLOD (*Isotomalongiflora* (L)  
*C. Presl.*) TERHADAP SEL T47D**

**OLEH**

**SELVIANA**

**K100 130 199**

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Pada hari sabtu, 17 Desember 2016  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

**Dewan Penguji:**

- 1. Azis Saifudin, Ph.D., Apt  
(Ketua Dewan Penguji)**
- 2. Andi Suhendi, M. Sc., Apt  
(Anggota I Dewan Penguji)**
- 3. Maryati, Ph.D., Apt  
(Anggota II Dewan Penguji)**

(.....)  
(.....)  
(.....)

**Dekan,**



**Azis Saifudin, Ph.D., Apt**

**NIK. 956**

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 17 Desember 2016

Penulis



SELVIANA

K 100 130 199

# UJI AKTIVITAS ANTIKANKER EKSTRAK ETANOL, FRAKSI POLAR, SEMIPOLAR, DAN NONPOLAR HERBA KITOLOD (*Isotoma longiflora* (L) C. Presl.) TERHADAP SEL T47D

Selviana\*, Maryati<sup>1</sup>

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta,

\*E-mail: selvianakh14@gmail.com

## Abstrak

Tanaman Kitolod (*Isotoma longiflora* (L) C.Presl) diduga memiliki aktivitas antikanker. Pada penelitian sebelumnya tanaman kitolod memiliki aktivitas antikaker terhadap sel WiDr dan sel HeLa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar, dan nonpolar tanaman kitolod terhadap sel kanker payudara T47D dan golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol dan fraksi tanaman kitolod. Serbuk herba kitolod dimaserasi dengan pelarut etanol 96%. Fraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum dengan menggunakan fase diam silika G60 dan fase gerak n-heksan:etil asetat (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5) dan etanol 96%. Identifikasi golongan senyawa menggunakan metode KLT dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (7:3). Hasil KLT divisualisasi menggunakan reagen semprot dragendorf, anisaldehyd, FeCl<sub>3</sub>, dan sitoborat. Uji sitotoksik dilakukan menggunakan metode MTT assay. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar, dan nonpolar tanaman kitolod memiliki aktivitas sitotoksik yang lemah terhadap sel T47D dengan nilai IC<sub>50</sub> secara berurutan 418,46; 665,74; 526,18; 856,12 µg/mL. Hasil identifikasi golongan senyawa menunjukkan pada ekstrak etanol dan fraksi polar mengandung alkaloid, terpenoid, saponin, fenolik, tanin, dan flavonoid, sedangkan fraksi semipolar dan nonpolar mengandung golongan senyawa yang sama dengan ekstrak etanol kecuali alkaloid.

**Kata Kunci:** *Isotoma longiflora* (L) C.Presl, MTT assay, Sel T47D, Sitotoksik.

## Abstract

*Kitolod herbs (Isotoma longiflora (L) C.Presl) predicted have anticancer activity. In the previous research, kitolod herbs have anticancer activity on WiDr and HeLa cells. This study aims to determine the cytotoxic activity of ethanol extracts, polar, semipolar and nonpolar fractions of kitolod herbs against breast cancer cells T47D and the chemical compounds contained in the samples. Samples was macerated by 96% ethanol. Fractionation performed by Vacuum Liquid Chromatography method with G60 silica as stationary phase and as the mobile phase n-hexane: ethyl acetate (9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5) and ethanol 96%. The chemical compounds were identified by TLC method with n-hexane: ethyl acetate (7:3) as mobility phase and used reagents like dragendorf, anisaldehyd, FeCl<sub>3</sub>, and sitoborat. Cytotoxic test performed on cancer cells T47D using MTT assay method. Cytotoxic test results showed that the ethanol extract, polar, semipolar, and nonpolar fractions of kitolod herbs have low cytotoxic activity to against T47D cells with IC<sub>50</sub> values respectively were 418,46; 665,74; 526,18; 856,12 µg/mL. The chemical compounds classes showed the ethanol extracts and polar fraction contains alkaloids, terpenoids, saponins, phenolic, tannins and flavonoids. The semipolar and nonpolar fractions contains similiar compounds with similiar to ethanol extract except alkaloids.*

**Keywords:** *Isotoma longiflora* (L) C.Presl, MTT assay, T47D cells, Cytotoxic.

## 1. PENDAHULUAN

Kanker adalah penyakit yang disebabkan adanya pertumbuhan sel tubuh yang tidak terkendali dan tidak terkontrolnya pembelahan sel (Dipiro et al., 2008). Angka kejadian kanker payudara di Indonesia sebesar 12,10% terbanyak kedua setelah kanker serviks yaitu sebanyak 19,18% (Tjindarbumi and Mangunkusumo, 2002). Sumber dari kanker payudara yaitu kelenjar, jaringan, dan saluran penunjang payudara selain kulit (Dipiro et al., 2008), yang tumbuh di bagian duktus dan menyebar pada bagian stroma kemudian membentuk jaringan ikat padat yang disertai dengan munculnya peradangan. Kanker payudara menyerang jaringan epitelial payudara yaitu bagian membran mukosa dan kelenjar sehingga kanker payudara dikategorikan dalam karsinoma (Tambunan, 1993).

Pengobatan kanker ada beberapa jenis diantaranya yaitu kemoterapi, radioterapi, pembedahan, dan terapi biologi (Manuaba, 2010). Dampak pengobatan kanker dengan kemoterapi salah satunya menyebabkan alopecia, pengobatan radiasi mempunyai efek samping mual muntah, dan terapi dengan pembedahan tidak sepenuhnya dapat mengangkat jaringan tubuh yang rusak karena kanker (Dipiro et al., 2008). Berdasarkan alasan tersebut maka mendorong peneliti terus mengembangkan agen sitotoksik yang berasal dari bahan alam (Pelengaris and Khan, 2006). Senyawa yang berasal dari bahan alam memiliki efek samping lebih minimum dan aman digunakan bila dibandingkan dengan pengobatan kemoterapi, radiasi, dan pembedahan.

Salah satu jenis bahan alam yang diduga mempunyai aktivitas antikanker yaitu tanaman kitolod (*Isotoma longiflora* (L) C. Presl). Tanaman tersebut merupakan jenis tanaman liar yang banyak ditemukan di Indonesia, khususnya pada habitat yang memiliki kelembaban yang cukup seperti aliran sungai dan semak-semak (Tjitrosoepomo, 2007). Saat ini, tanaman kitolod masih dianggap sebagai tanaman gulma. Secara empiris, tanaman kitolod digunakan sebagai antibakteri, obat mata, katarak, sakit gigi, asma, bronkitis, luka, radang tenggorokan, dan antikanker. Kemampuannya sebagai obat karena tanaman kitolod memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, saponin, polifenol, flavonoid, dan tanin (Siregar, 2012). Aktivitas sitotoksik penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun kitolod memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker kolon WiDr dengan nilai  $IC_{50}$  191,74  $\mu\text{g/mL}$  (Maghfiroh, 2015). Sejauh pengetahuan peneliti belum banyak penelitian ilmiah mengenai uji aktivitas antikanker dari tanaman kitolod, maka penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui potensi antikanker ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar, dan nonpolar herba kitolod terhadap sel kanker payudara T47D dan mengetahui jenis golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak etanol serta bentuk fraksinya.

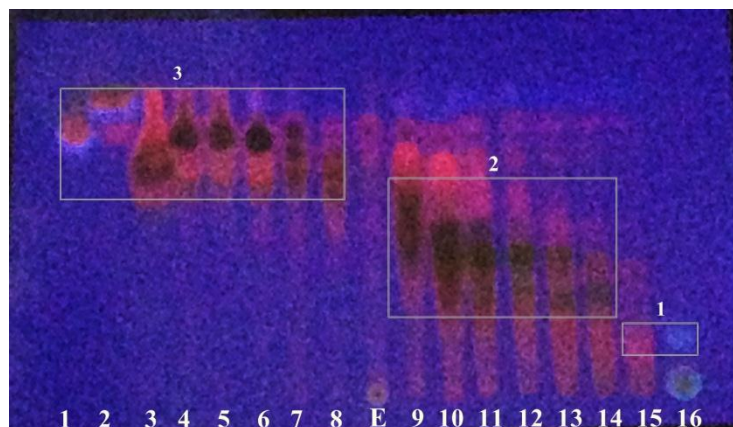
## 2. METODE

Ekstraksi herba kitolod menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Hasil ekstrak kental yang telah didapat dilanjutkan dengan proses fraksinasi yang sebelumnya didahului dengan optimasi fase gerak untuk mencari fase gerak yang sesuai, menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis. Perbandingan fase gerak yang digunakan yaitu 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, dan 5:5. Ekstrak kental yang didapatkan dari proses maserasi dan remaserasi dilarutkan menggunakan metanol. Ekstrak yang dibutuhkan untuk satu kali proses Kromatografi Cair Vakum yaitu 20 g dan diimpregnasi dengan silika impreg G60 sebanyak 2 kali berat sampel. Selanjutnya, sampel yang telah terimpregnasi dimasukkan ke dalam kolom Kromatografi Cair Vakum dan dilakukan elusi dengan pelarut. Pelarut yang dimasukkan ke dalam kolom berdasarkan tingkat kepolarannya yaitu n-heksan:etil asetat mulai dari 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, dan 5:5. Masing-masing elusi ditampung dengan volume 150 ml sebanyak 16 botol dan kemudian diuapkan dengan bantuan *rotary evaporator* (Haryoto et al., 2015). Hasil evaporasi dari 16 botol, digolongkan menjadi fraksi polar, semipolar, dan nonpolar dengan metode kromatografi lapis tipis. Fase gerak yang digunakan n-heksan:etil asetat (7:3) dan fase diam silika GF 254. Uji kandungan senyawa juga menggunakan kromatografi lapis tipis, dengan fase diam silika GF 254 yang diaktifkan pada oven dengan suhu 110° C selama 1 jam dan fase gerak n-heksan:etil asetat (7:3). Larutan uji ditotolkan hingga beberapa kali totolan pada plat silika GF 254 dengan jarak pengembangan elusi 5cm sehingga didapatkan pemisahan yang sempurna. Kromatogram diamati dibawah sinar UV 254 dan 366 nm, dan dilanjutkan dengan penyemprotan menggunakan pereaksi semprot dragendorf, sitoborat, anisaldehyd-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, dan FeCl<sub>3</sub>. Uji sitotoksik menggunakan metode MTT *assay*. Ekstrak kental etanol 96%, fraksi polar, semipolar, dan nonpolar masing-masing ditimbang 10 mg kemudian dilarutkan menggunakan DMSO 1%. Masing-masing sampel dibuat menjadi 5 seri konsentrasi yaitu 31,25 µg/mL, 62,5 µg/mL, 125 µg/mL, 250 µg/mL, dan 500 µg/mL. Setiap sumuran 96 well plate berisi 100 µL. Sel T47D yang konfluen diinkubasi selama 1 hari, selanjutnya diberikan larutan MTT dan diinkubasi sampai terbentuknya kristal formazan yang berwarna ungu. Diinkubasi selama 2-4 jam, setelah itu ditambahkan SDS 10% dalam 0,01 N HCl sebagai reagen *stopper*. Diinkubasi semalam dengan suhu kamar. Pada akhir masa inkubasi serapan dibaca dengan ELISA *reader* dengan panjang gelombang 594 nm. Data absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung persen sel hidup, yang nantinya akan digunakan untuk menghitung nilai IC<sub>50</sub>.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Fraksinasi

Berdasarkan hasil optimasi didapatkan fase gerak n-heksan:etil asetat (7:3) yang akan digunakan untuk fraksinasi Kromatografi Lapis Tipis. Proses fraksinasi dilakukan satu kali dengan hasil 16 botol hasil fraksinasi, kemudian hasil tersebut dikelompokkan berdasarkan tingkat kepolarannya menjadi fraksi polar, semipolar, dan nonpolar (Gambar 1). Penggolongan tersebut berdasarkan tingkat kepolaran. Pada plat KLT, analit yang tertahan pada fase diam dikategorikan dalam fraksi polar, karena fase diam memiliki sifat lebih polar dibandingkan dengan fase gerak, sedangkan untuk analit yang ikut terelusi oleh fase gerak dikategorikan ke dalam fraksi non polar (Saifudin, 2014). Pengelompokkan tersebut sebagai berikut fraksi polar 15 dan 16, fraksi semipolar 9, 10, 11, 12, 13, dan 14, dan fraksi nonpolar 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan 8.



**Gambar 1.** Kromatogram hasil fraksinasi fase gerak n-heksan : etilasetat (7:3) dan fase diam plat KLT silika GF 254 dan diamati di UV 366 nm ).

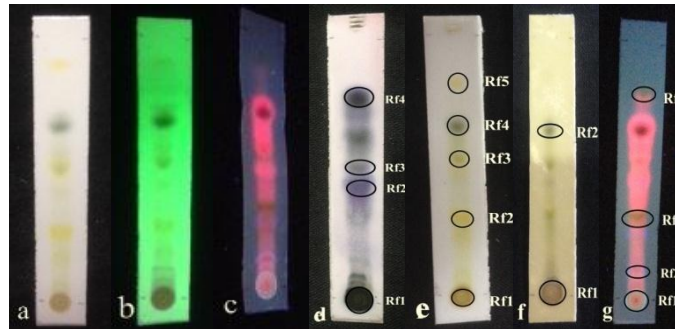
Pada gambar 1, terjadi *diffusi eddy* dimana terlihat bahwa kromatogram yang sudah dielusi mengalami pelebaran pita dan terjadi *resistant mass transfer* antara analit dengan fase diam dan fase gerak, hal ini dapat terjadi bila fase gerak mengalir dengan cepat dan analit kuat terikat pada fase diamnya, maka sebagian analit yang dipisahkan tidak efisien. Salah satu kejadian dalam sistem kromatografi adalah perluasan puncak sebagai senyawa yang bergerak melalui kolom kromatografi. Sebuah sistem kromatografi yang ideal akan menghasilkan puncak garis lurus yang tidak ada perluasan. Proses tertentu yang terjadi dalam sistem kromatografi dapat menyebabkan perluasan puncak, hal ini dipengaruhi oleh variabel eksperimental.

#### 3.2 Uji kandungan golongan senyawa ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar, dan nonpolar

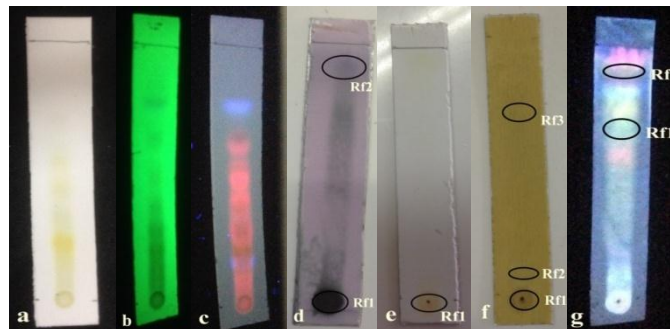
Uji golongan senyawa yang digunakan yaitu Kromatograf Lapis Tipis. Fase gerak yang digunakan untuk mengelusi yaitu n-heksan: etil asetat (7:3). Identifikasi golongan senyawa



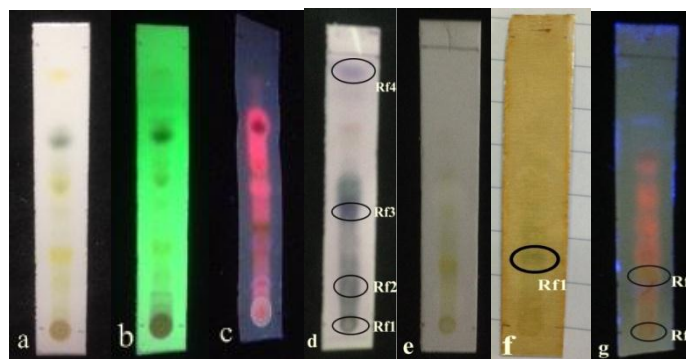
dilakukan dengan menggunakan pereaksi semprot dragendorf, anisaldehyd- $\text{H}_2\text{SO}_4$ , sitoborat, dan  $\text{FeCl}_3$ .



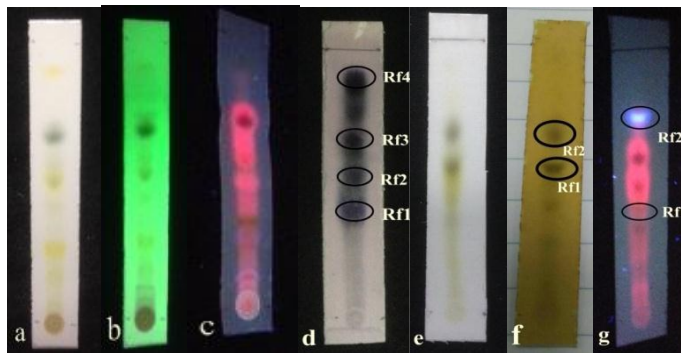
**Gambar 2.** Kromatogram hasil KLT Ekstrak Etanol Herba Kitolod dengan fase gerak N-heksan :EtilAsetat (7:3). Sebelum diberi pereaksi (a), diamati pada UV 254 nm (b), diamati pada UV 366 nm (c), kromatogram diamati disinar tampak, anisaldehyd-  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (d), Dragendorf (e),  $\text{FeCl}_3$  (f), Sitoborat diamati di UV 366 nm (g).



**Gambar 3.** Kromatogram hasil KLT Fraksi Polar dengan fase gerak EtilAsetat : N-heksan (9:1). Sebelum diberi pereaksi (a), diamati pada UV 254 nm (b), diamat ipada UV 366 nm (c), kromatogram diamati disinar tampak, anisaldehyd-  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (d), Dragendorf (e),  $\text{FeCl}_3$  (f), Sitoborat diamati di UV 366 nm (g).



**Gambar 4.** Kromatogram hasil KLT Fraksi Semipolar Herba Kitolod dengan fase gerak N-heksan :EtilAsetat (7:3). Sebelum diberi pereaksi (a), diamati pada UV 254 nm (b), diamati pada UV 366 nm (c), kromatogram diamati disinar tampak, anisaldehyd-  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (d), Dragendorf (e),  $\text{FeCl}_3$  (f), Sitoborat diamati di UV 366 nm (g).



**Gambar 5.** Kromatogram hasil KLT Fraksi Nonpolar Herba Kitolod dengan fase gerak N-heksan :EtilAsetat (7:3). Sebelum diberi pereaksi (a), diamati pada UV 254 nm (b), diamati pada UV 366 nm (c), kromatogram diamati disinari tampak, anisaldehyd-  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (d), Dragendorff (e),  $\text{FeCl}_3$  (f), Sitoborat diamati di UV 366 nm (g).

Deteksi pertama menggunakan dragendorff, pereaksi semprot ini spesifik untuk mendeteksi kandungan golongan senyawa alkaloid. Keberadaan senyawa alkaloid ditandai dengan warna orange kecoklatan dilihat pada sinar tampak (Wagner and Blatt, 1996). Dragendorff mengandung *potasium iodide bismuth*, atom N pada senyawa alkaloid dapat berikatan dengan atom K pada *potasium iodide bismuth* dan membentuk kompleks sehingga menimbulkan warna coklat pada saat disemprot dengan dragendorff. Deteksi berikutnya menggunakan reagen semprot sitoborat, untuk mengetahui adanya kandungan golongan senyawa flavonoid. Deteksi warna dilihat dibawah sinar UV 366 nm dengan fluoresensi warna kuning-biru kehijauan (Markham, 1982).

Deteksi kandungan senyawa saponin dan terpenoid menggunakan anisaldehyd- $\text{H}_2\text{SO}_4$ , kedua senyawa tersebut memiliki ikatan ganda yang terbatas, semakin terbatasnya ikatan ganda suatu senyawa akan menyebabkan intensitasnya semakin lemah, oleh karena itu untuk memvisualkan bercak perlu dilakukan derivatisasi, salah satunya dengan reagen anisaldehyd- $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Anisaldehyd dengan bantuan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  akan memperpanjang rantai konjugasi dari senyawa target yang menyebabkan terbentuknya warna violet pada cahaya tampak (Saifudin, 2014). Kandungan polifenol ditunjukkan dengan terbentuknya bercak berwarna abu-abu kehitaman setelah disemprot dengan reagen  $\text{FeCl}_3$  (Wagner and Blatt, 1996), hasil yang positif menunjukkan bahwa ada gugus fenol dalam ekstrak sampel yang membentuk kompleks dengan  $\text{FeCl}_3$ .

**Tabel 1.** Hasil uji kandungan golongan senyawa dalam ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar, dan non polar herba kitolod.

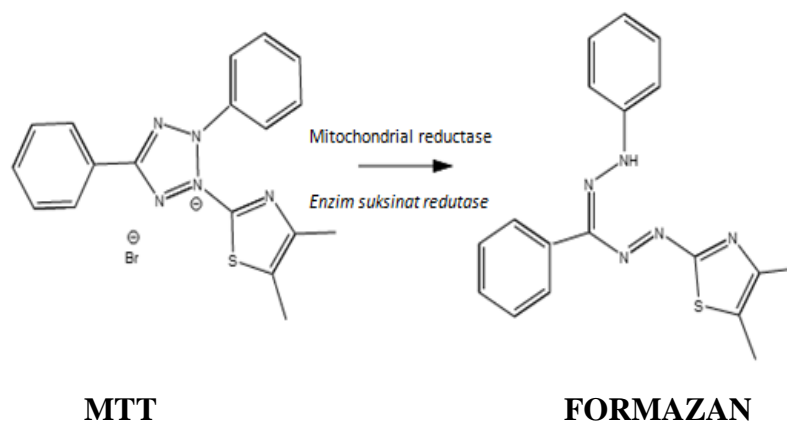
Reagen Se mprot	Ekstrak Etanol		Fraksi Polar		Fraksi Semipolar		Fraksi Nonpolar		Interpretasi Hasil
	Rf	warna	Rf	warna	Rf	warna	Rf	warna	
Anisaldehyd	0,04		0,94		0,02		0,43		
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,44				0,16		0,54		
Visual	0,54	Ungu		Ungu	0,46	Ungu	0,7	Ungu	Terpenoid
	0,74	Violet		Violet	0,96	Violet	0,91	Violet	Saponin
Dragendorf	0,02		0,04						
Visual	0,32								
	0,34	Orange		Orange	-	-	-	-	Alkaloid
	0,54	-coklat		coklat					
	0,84								
FeCl <sub>3</sub>	0,04	Abu-	0,04	Abu-	0,23	Abu-	0,5	Abu-	Fenolik
Visual	0,66	abu	0,22	abu		abu	0,65	abu	
			0,78						
Sitoborat	0,04		0,74		0,02		0,35		
UV 366 nm	0,12	Hijau-	0,92	Hijau-	0,3	Hijau-	0,82	Hijau-	Flavonoid
	0,34	biru		biru		biru		biru	

Keseluruhan dari hasil uji kandungan golongan senyawa menggunakan KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi polar tanaman kitolod mengandung alkaloid, terpenoid, saponin, fenolik, tanin, dan flavonoid. Sedangkan fraksi semipolar dan nonpolar mengandung terpenoid, saponin, fenolik, tanin, dan flavonoid.

### 3.3 Uji sitotoksik terhadap sel T47D

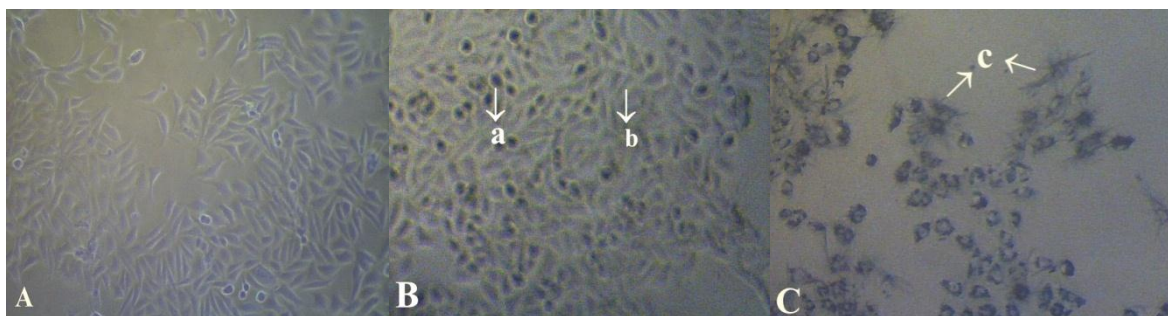
Pengujian aktivitas sitotoksik ada beberapa cara yaitu diantaranya LDH (*lactate dehydrogenase leakage assay*), protein assay, MTT (*methyltetrazolium assay*), dan *neutral red assay* (Fotakins and Trimbell, 2005). Metode MTT dan *neutral red assay* memiliki sensitivitas yang lebih baik untuk uji sitotoksik dibandingkan dengan LDH dan protein assay. Uji sitotoksik di dalam penelitian ini menggunakan metode MTT assay. Metode ini dipilih karena memiliki keuntungan diantaranya sensitivitas dan reproduktivitas yang tinggi, mudah untuk dilakukan, dan efisiensi waktu karena cepat dalam pelaksanaannya (Ferrari and Fornasiero, 1990). Metode MTT assay termasuk metode kolorimetrik. Reagen MTT merupakan garam tetrazolium larut air dan menghasilkan larutan berwarna kuning. Garam ini dapat dipecah menjadi kristal formazan yang tidak larut air oleh enzim dehidrogenase suksinat yang terdapat dalam jalur respirasi mitokondria sel (Van *et al.*, 2011). Enzim dehidrogenase suksinat akan mengubah MTT berwarna kuning yang larut air menjadi kristal formazan yang tidak larut air dengan warna ungu. Pada sel aktif, enzim mitokondria akan memetabolisme garam tetrazolium sehingga terjadi pemutusan cincin

tetrazolium dan mengakibatkan tetrazolium berubah menjadi kristal formazan (Gambar 10). SDS 10% dalam 0,01 N HCl menghentikan reaksi enzimatik dan melarutkan kristal formazan (Mosmann, 1983).



**Gambar 6.** Mekanisme pembentukan kristal formazan oleh enzim suksinat dehidrogenase pada mitokondria sel hidup

Intensitas warna ungu menunjukkan banyaknya sel aktif yang masih hidup. Semakin pekat warna ungu yang dihasilkan maka menyebabkan absorbansi yang dihasilkan semakin besar karena jumlah sel kanker yang hidup semakin banyak. Sel kanker yang telah diberi perlakuan namun masih hidup dan tetap aktif tidak mengalami perubahan morfologi dan warna. Sedangkan sel yang sudah mati akan mengalami perubahan morfologi dan mengalami perubahan warna menjadi lebih gelap (Gambar 7).



**Gambar 7.** Sel T47D normal tanpa perlakuan (A), sel yang mendapat perlakuan ekstrak etanol 250 µg/mL (a: sel yang mati, b: sel yang hidup) (B), dan terbentuknya kristal formazan pada perlakuan ekstrak etanol 250 µg/mL setelah MTT (c: Kristal formazan) (C).

Berdasarkan hasil perhitungan yang telah dilakukan diperoleh nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol yaitu 418,46 µg/mL, fraksi polar sebesar 665,75 µg/mL, fraksi semipolar sebesar 526,18 µg/mL, dan fraksi nonpolar yaitu sebesar 856,12 µg/mL. Perhitungan fraksi polar, semipolar, dan nonpolar ekstrak etanol dilakukan dengan cara ekstrapolasi, sehingga nilai  $IC_{50}$  menjadi bias.

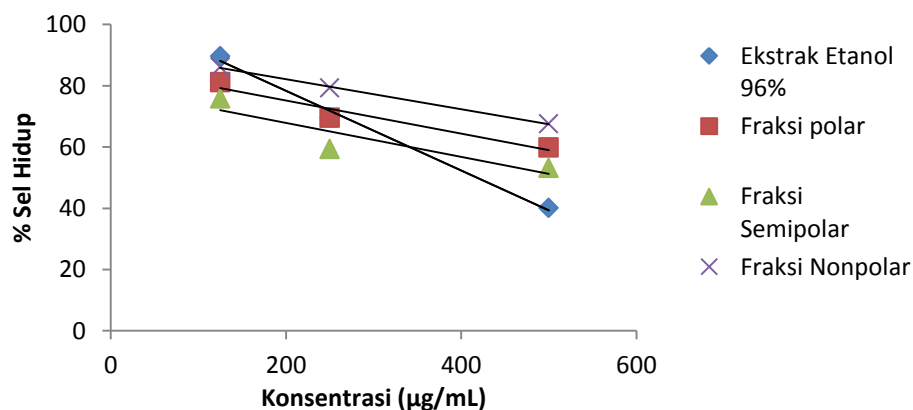
Berdasarkan hasil nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol dan ketiga fraksinya menunjukkan bahwa semuanya memiliki potensi sebagai agen sitotoksik yang lemah dalam menghambat pertumbuhan sel kanker T47D. Menurut *National Cancer Institute* (NCI), suatu senyawa dapat dikategorikan

potensial memiliki aktivitas sitotoksik bila nilai  $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$ , aktivitas sitotoksik lemah  $IC_{50} < 1000 \mu\text{g/mL}$ , dan tidak memiliki aktivitas sitotoksik jika  $IC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ .

**Tabel 2.** Hasil uji sitotoksik dengan perlakuan ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar, dan nonpolar tanaman kitolod.

Sampel	K ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Sel Hidup			Persamaan Regresi Linier	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )
		Data 1	Data 2	Rata-rata		
Ekstrak Etanol	125	93,225	86,111	89,668	$y = -0,130x + 104,4$	418,46
	250	81,640	57,453	69,546	$R^2 = 0,993$	
	500	71,477	8,672	40,075		
F. Polar	125	85,705	76,558	81,131	$y = -0,054x + 85,95$	-
	250	78,997	60,095	69,546	$R^2 = 0,942$	
	500	71,274	48,509	69,892		
F. Semipolar	125	92,209	59,485	75,847	$y = -0,055x + 78,94$	-
	250	95,867	22,900	59,383	$R^2 = 0,814$	
	500	88,144	18,225	53,184		
F. Nonpolar	125	87,534	84,688	86,111	$y = -0,049x + 91,95$	-
	250	93,631	64,973	79,302	$R^2 = 0,998$	
	500	91,599	43,631	67,615		

K= Konsentrasi, F= Fraksi



**Gambar 8.** Grafik hubungan konsentrasi dengan persen sel hidup setelah diberi perlakuan ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar, dan nonpolar.

Hasil aktivitas sitotoksik tertinggi ada pada ekstrak etanol herba kitolod. Ekstrak etanol yang sudah diuji secara kualitatif, mengandung golongan senyawa alkaloid, terpenoid, saponin, fenolik, tanin, dan flavonoid. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Ren *et al.*, (2003) kandungan golongan senyawa flavonoid memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan sel kanker, dengan mekanisme molekuler yaitu inaktivasi senyawa antiproliferatif, penghambatan angiogenesis serta daur sel, karsinogenik, induksi apoptosis dan aktivitas antioksidan, sehingga penghambatan terjadi baik pada tahap inisiasi ataupun progresi. Penelitian lainnya menunjukkan bahwa, golongan senyawa alkaloid mempunyai kemampuan sitotoksik terhadap sel kanker T47D (Lu *et al.*, 2012). Senyawa fenolik juga memiliki kemampuan untuk menghambat aktivasi NF- $\kappa$ B dan *signalling* cascade AP-1 pada sel kanker sebagai target terapeutik utama, senyawa fenolik dapat menambah

sistem imunitas tubuh untuk menghambat angiogenesis sel kanker (Wahle et al., 2009). Namun hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak etanol tanaman kitolod yang mengandung alkaloid, flavonoid, dan polifenol kurang memiliki aktivitas antikanker terhadap sel T47D. Hal ini diduga karena konsentrasi golongan senyawa alkaloid, flavonoid, dan polifenol sangat kecil dalam tanaman kitolod atau jenis senyawa yang terkandung dalam alkaloid, flavonoid, dan polifenol tidak bersifat sitotoksik.

#### **4. PENUTUP**

#### **KESIMPULAN**

Berdasarkan dari hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan, maka disimpulkan bahwa: Ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar, dan nonpolar herba kitolod (*Isotoma longiflora* (L) C.Presl) memiliki aktivitas sitotoksik lemah terhadap sel T47D dengan masing-masing nilai IC<sub>50</sub> yaitu 418,46 µg/mL, 665,74 µg/mL, 526,18 µg/mL, dan 856,12 µg/mL. Golongan senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol herba kitolod (*Isotoma longiflora* (L) C.Presl) dan fraksi polar antara lain alkaloid, terpenoid, saponin, fenolik, tanin, dan flavonoid, sedangkan pada fraksi semipolar dan non polar mengandung terpenoid, saponin, fenolik, tanin, dan flavonoid.

#### **SARAN**

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas sitotoksik tanaman kitolod terhadap sel kanker lainnya seperti kanker leukemia (P388), kanker kolon (WiDr), dansel yang normal (selvero) untuk mengetahui keamanan aktivitas sitotoksiknya dan pengujian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan senyawa penanda yang ada dalam ekstrak etanol, fraksi polar, semipolar, dan nonpolar tanaman kitolod yang memiliki aktivitas antikanker.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Dipiro J.T., Talbert R.L., Yee G.C., Weels B.G. and L Michael. Posey, 2008, *Pharmacotherapy a Pathophysiologic Approach*, The McGraw-Hill Companies, Inc, New York, p. 2156-2158.
- Ferrari, M., & Fornasiero, M. C. 1990. MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro. *Journal of Immunological Methods*, 131, 165–172.
- Haryoto, H., Suhendi, A., & Muhtadi, M, 2015, Cytotoxic Activity Of Polar , Semipolar , And Non Polar Fraction Of Ethanol Extract Of Sala Plants Leaves ( *Cynometra ramiflora* Linn .) Againts WiDr Cell Molecular Biology. *Proceeding-ICB Pharma II*.
- Lu J., Bao J., Chen X., Huang M. and Wang Y., 2012, Alkaloids Isolated from Natural Herbs as the Anticancer Agents, 2012, 12.
- Maghfiroh L., 2015, *Uji Sitotoksitas Fraksi-Fraksi Hasil Pemisahan Crude Extract Daun Kitolod (Isotoma Longiflora L.) Terhadap Cell Line Kanker Kolon WiDr.*, Skripsi, Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.

- Manuaba T.W., 2010, *Panduan Penatalaksanaan Kanker Solid*, Sagung Seto, Jakarta, p. 61.
- Markham K., 1982, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Patwinata, K., ed., Penerbit ITB, Bandung, p 71-72.
- Mosmann T., 1983, Rapid Colorimetric Assay for Cellular Growth and Survival : Application to Proliferation and Cytotoxicity Assays, *Journal of Immunological Methods*, 65 (1-2), 55-63.
- National Cancer Institute. *Understanding Cncer Series*, [hptt://www.cancer.gov](http://www.cancer.gov) (Diakses tanggal 12 Januari 2017)
- Pelengaris S. and Khan M., 2006, *The Molecular Biology of Cancer*, Wiley, p.77-79.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., & Zhang, L, 2003, Flavonoids : Promosing Anticancer Agent. *Medicinal Research Review*, 23(4), 519–534.
- Saifudin A., 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori Konsep dan Teknik Pemurnian*, Deepublish, Yogyakarta, p. 35-46.
- Sarker S., Latif Z. and Gray A., 2006, *Natural Products Isolation*, Second Edi., Human Press, Towata, New Jersey, p. 25.
- Siregar R.M., 2012, *Aktivitas antibakteri ekstrak daun dan bunga kitolod (Laurentia longiflora (L. Peterm) terhadap beberapa bakteri penyebab konjungtivitas., Skripsi*, Institut Pertanian Bogor.
- Tambunan G.W., 1993, *Diagnosis dan Penatalaksanaan Sepuluh Jenis Kanker Terbanyak di Indonesia*, Kedokteran EGC, Jakarta, p. 39.
- Tjindarbumi D. and Mangunkusumo R., 2002, Cancer in Indonesia, present and future., *Jpn J Clin Oncol*, 32, S17–S21.
- Tjitrosoepomo G., 2007, *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*, Press UGM, Yogyakarta, p. 52-53
- Van, M. J., GJ, K., & J, C. ,2011, Cell sensitivity assays: the MTT assay. *Methods Mol Biol*, 731, 237–45.
- Wagner H. and Bladt S., 1996, *Plant Drug Analysis : A Thin Layer Chromatography Atlas*, Second Edi., Springer-Verlag, Berlin, p. 110-114.
- Wahle K.W., Brown I., Rotondo D. and Heys S.D., 2009, Plants Phenolic, In: Maria Teresa Giardi, Giuseppina Rea and Bruno Berra, Prevention and Treatment of Cancer in Bio-Farms for Nutraceutical: Function Food and Safety Control by Biosensors, Dalam Lades Bioscience and Springer Science + Business Media, U K, pp. 36–51.